



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA

EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DEL
ORIGANUM VULGARE Y *ROSMARINUS OFFICINALIS* SOBRE
ESCHERICHIA COLI ATCC11229 COMPARADO CON GENTAMICINA

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO
CIRUJANO

AUTORA:

LEYLA LUMIERE ALEGRE PANDURO

ASESORES:

DRA. EVELYN GOICOCHEA RÍOS

(ASESORA METODOLÓGICA)

MG. POLO GAMBOA JAIME ABELARDO

(ASESOR ESPECIALISTA)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y TRANSMISIBLES

Trujillo – Perú

2018

DEDICATORIA

A Dios, por guiarme en este camino llamado vida.

A mi familia, por brindarme todas las oportunidades para crecer como ser humano y profesional y brindarme la ayuda para abrir esas puertas que consideré cerradas.

A mí misma, por la perseverancia que mantuve pese a las circunstancias que me rodearon.

Y a mis amigos, por ser oyentes de mis largas quejas.

AGRADECIMIENTO

A mis profesores, por su paciencia y tiempo invertido en este trabajo.

A mi familia, por toda la fe que pusieron en mí. Con especial cariño a mi abuelo, por el apoyo incondicional que siempre me brindó y el ejemplo de ser humano que me inspira a ser día a día.

A la Universidad César Vallejo, por abrirme las puertas y permitirme culminar mi carrera profesional.

PRESENTACIÓN

El presente trabajo titulado “Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial del *Origanum vulgare* y *Rosmarinus officinalis* sobre *Escherichia coli* ATCC11229 comparado con gentamicina” tiene el objetivo de determinar el efecto antibacteriano in vitro del orégano y romero sobre *E. coli* ATCC11229 comparado con gentamicina.

El estudio está conformado por los siguientes capítulos;

Capítulo I, donde se brinda toda la información sobre las variables de estudio, la realidad problemática, trabajos previos, teorías relacionadas al tema, formulación del problema, justificación, hipótesis y los objetivos.

Capítulo II, donde se explica el método utilizado, se detalla la población y muestra, la técnica e instrumentos y los aspectos éticos respetados.

Capítulo III, donde se dan a conocer los resultados del estudio.

Capítulo IV, donde se compara y discute los resultados encontrados en nuestro estudio con los hallados en trabajos previos.

Capítulo V: conclusiones.

Capítulo VI: recomendaciones.

Por último, se muestran las referencias bibliográficas utilizadas y los anexos.

ÍNDICE

DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTO.....	ii
DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD.....	iii
PRESENTACIÓN.....	iv
ÍNDICE.....	v
RESUMEN.....	vii
ABSTRACT.....	viii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. REALIDAD PROBLEMÁTICA.....	1
1.2. TRABAJOS PREVIOS.....	4
1.3. TEORÍAS RELACIONADAS AL TEMA.....	7
1.4. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	11
1.5. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.....	11
1.6. HIPÓTESIS.....	11
1.7. OBJETIVOS.....	12
II. MÉTODO.....	13
2.1. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN.....	13
2.2. VARIABLES, OPERACIONALIZACIÓN.....	14
2.3. POBLACIÓN Y MUESTRA.....	15
2.4. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS, VALIDEZ Y CONFIABILIDAD.....	16
2.5. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS.....	16
2.6. ASPECTOS ÉTICOS.....	17
III. RESULTADOS.....	18
IV. DISCUSIÓN.....	22
V. CONCLUSIONES.....	25

VI.	RECOMENDACIONES	25
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26
VIII.	ANEXOS	31

RESUMEN

El presente estudio experimental con post prueba evaluó el efecto antibacteriano in vitro del *Origanum vulgare* y *Rosmarinus officinalis* sobre *Escherichia coli* comparado con gentamicina. Se evaluaron 3 grupos: el experimental, al que se aplicó el aceite esencial, así como la sustancia antibiótica; el grupo control negativo al que se aplicó DMSO y el grupo control positivo al que se aplicó gentamicina.

La población estuvo constituida por 14 placas Petri que contuvo cada una seis muestras de colonias cultivadas de *Escherichia Coli* ATCC11229. Se utilizó el orégano y romero a concentraciones de 50%, 75% y 100% cada una. Con respecto al orégano, los resultados fueron: al 50% un halo de inhibición de 10.43 mm, al 75% un halo de inhibición de 15.64 mm y al 100% un halo de inhibición de 21.93 mm; con respecto al romero al 50% no se encontró halo de inhibición, en cambio al 75% se obtuvo un halo de inhibición de 9.64 mm y al 100% un halo de inhibición de 14.64 mm. Se utilizó la prueba de ANOVA y el test de homogeneidad de Tukey.

Palabras clave: *Origanum vulgare*, *Rosmarinus officinalis*, efecto antibacteriano

ABSTRACT

The present experimental study which included a post test evaluated the in vitro antibacterial effect of *Origanum vulgare* and *Rosmarinus officinalis* on *Escherichia coli* in comparison to gentamicin. Three groups were evaluated: the experimental, the essential product, as well as the antibiotic substance; the negative control group that applies DMSO and the positive control group where gentamicin is applied.

The population consisted of 14 Petri plates that each contained six samples of cultivated colonies of *Escherichia Coli* ATCC11229. Oregano and rosemary are used at 50%, 75% and 100% each. With respect to oregano, the results were: 50% with an inhibition halo of 10.43 mm, 75% with an inhibition halo of 15.64 mm and 100% with an inhibition halo of 21.93 mm. With regard to romero at 50%, no halo of inhibition was found, whereas at 75%, an inhibition halo of 9.64 mm was obtained, and at 100%, a halo of inhibition of 14.64 mm. The ANOVA test and the Tukey homogeneity test.

Key words: *Origanum vulgare*, *Rosmarinus officinalis*, antibacterial effect.

I. INTRODUCCIÓN

1.1. REALIDAD PROBLEMÁTICA

La *Escherichia coli* (*E. coli*) es un microorganismo, que se ubica generalmente en el segmento intestinal del aparato digestivo de los seres humanos y mamíferos. Un gran porcentaje de cepas de *E. coli* son inocuas, aunque algunas pueden ocasionar cuadros diarreicos severos, cuya transmisión ocurre por consumir productos alimentarios contaminados, como alimentos cárnicos, lácteos y hortalizas contaminadas. Se prevé que cerca del 12% de individuos infectados por *E. coli* productora de toxina Shiga desarrollan síndrome hemolítico urémico, cuya letalidad alcanza entre el 3 al 5%. Una de las complicaciones más graves es la insuficiencia renal aguda en infantes. También se presentan trastornos neurológicos que pueden llevar al coma en el 20 a 25% de individuos con el referido síndrome hemolítico urémico SHU, así como lesiones renales de tipo crónico, la mayoría leves, en el 50% de pacientes.¹

Es importante señalar que la *E. coli* entero patógena es responsable de casos de enfermedad diarreica aguda especialmente en niños; en una población de menores de cinco años de cerca de dos millones de niños se ubica en la segunda posición de causa de fallecimiento, afectando a su vez el crecimiento y desarrollo, incrementando la probabilidad de desnutrición tanto aguda como crónica.²

Investigaciones realizadas en el Perú señalan que la prevalencia global en procesos diarreicos ocasionadas por cepas de *E. coli* enteroagregativa fue 10%, enteropatogénica 9%, enterotoxigénica 7%, difusamente adherente 5%, productora de toxina shiga 1% y enteroinvasiva 6%. Dependiendo de ciertos factores como: el tipo de estudio y la edad, se encontró que la frecuencia de cada patógeno cambia, siendo más prevalentes en zonas rurales del Perú; donde se presentan casos graves de diarrea.^{3, 4}

Actualmente existe interés acerca de las plantas como medicina alternativa debido a la resistencia biológica bacteriana y fúngica especialmente referente a los antimicrobianos, impulsando buscar alternativas. Existen productos vegetales que poseen propiedades terapéuticas de amplio espectro en menor o mayor medida contra bacterias, virus dermatofitos, parásitos, entre otros. Uno de esos productos es el *Origanum vulgare* “orégano”. Su presentación oleosa es utilizada en el oriente para preservar alimentos y curar heridas. En la Europa mediterránea se usa para tratar:

cefaleas, úlceras, enfermedades respiratorias, asma y cólicos. El orégano se usa en infusiones como remedio popular contra el resfrió.⁵

El orégano es una planta oriunda del Oriente Medio, usualmente obtenido de regiones del mediterráneo y en el Perú se cultiva en regiones como Tacna, desde donde es exportado hacia otros países. De esta planta su componente principal es el aceite esencial, el que posee diversos compuestos, destacando los fenoles además de hidrocarburos, linalol y otros, los mismos que dependiendo de la procedencia de la planta se encuentran en diferentes cantidades y que son los responsables de brindarle ciertos efectos como: expectorante, digestivo, antiséptico, cicatrizante e incluso analgésico. Actualmente hay una variedad de estudios en referencia a su actividad antibacteriana, permitiendo dar uso a la planta tanto en medicina como en el hogar, sea como bactericida o insecticida respectivamente.^{6,7}

En el 2012 se publicó evidencia sobre dicha actividad antibacteriana, inhibiendo el crecimiento de bacterias como la *E. coli*, lo cual conllevó al uso de dicho producto natural como alternativa antibacteriana en los procesos de curación de las infecciones bacterianas y como un medio eficaz para la prevención del desarrollo de la cepa resistente a los antibióticos.⁸

El romero es una planta que se cultiva en diversas partes mundo, destacando Portugal, España y América Latina. Es una de las plantas que pertenecen a la familia Lamiaceae y que es actualmente empleada en el ámbito médico debido a los principios activos que posee. Dentro de ellos los más importantes son: ácido fenólicos, flavonoides, ácido tirtepénicos, aceite esencial y alcohol tirtepénico. La propiedad antioxidante es causada por los ácidos caféico y rosmarínico, estos últimos también poseyendo la propiedad de producción de leucotrienos B4. Así mismo posee otras propiedades: antirreumática, digestiva y aperitiva; siendo el aceite esencial el que le confiere propiedades de cicatrización y antibacteriana.^{9,10}

Dentro de los componentes del romero se encontró que mayormente poseían monoterpenos como: piperitona (21,9 %), linalool (14,9 %) y pineno (14,9 %), mientras que su mecanismo de acción en bacterias Gram negativas se explica debido a uno de sus principios activos presentes en el aceite esencial: los tertepenos, ya que estos actúan a nivel de la capa bilipídica, aumentando su permeabilidad y generando

un daño irreparable. Algunos sostienen que la presencia del 1,8 cineol es el causante de esta propiedad, mientras que otros autores refieren que depende directamente de la concentración de cada uno de los principios activos que se puedan encontrar en la planta.^{9,11,12}

1.2. TRABAJOS PREVIOS

Hussain, A. et al.¹³ (Irlanda, 2010) usaron 100 g de aceite esencial de romero obtenido de Pakistán sobre diversas cepas, entre ellas la *E. coli*, sin agregarle alguna otra sustancia, buscando el efecto antioxidante y antibacteriano de dicha planta; estudiaron además los componentes del romero para sustentar la razón de estos, encontrando que en su mayor parte está compuesto con 1,8 cineol, seguido de alcanfor y α -pineno. Los resultados encontrados sobre su efecto antibacteriano se midieron en halos de inhibición y con respecto a la *E. coli* fueron de: 14.3 ± 0.7 mm. Además, se encontró dentro de sus componentes: 88.5% de 1,8 cineol, 17,1% de alcanfor, 12,3% de pineno y que existe un 67% de monoterpenos oxigenados y 76% de los hidrocarbonados.

Rashid K.¹⁴ (Irak, 2010) buscó determinar los componentes del aceite esencial del romero además de su efecto antibacteriano frente a ciertas bacterias, incluyendo a la *E. coli*, la misma bacteria que resultó susceptible a este aceite. Se aplicaron 7 concentraciones de romero, encontrando que a partir de la 32 ul/mL (30%) presenta un efecto antibacteriano con halo de inhibición de 17 mm, resaltando que a concentración de 64 ul/mL (60%) presenta un halo de inhibición de 19 mm. En base a sus componentes se encontró que contenía alcanfor en un porcentaje de 20.54%, seguido de verbenona con un 12.71 % y en menor porcentaje los pinenos: α -pineno con 2.28% y β -pinene con 1.77%.

Bastos M, et al¹⁵ (Brasil, 2011) evaluaron la eficacia del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. en bacterias obtenidas de leche mastítica, entre ellas la *E. Coli*. Fue un estudio experimental en el que se usó el orégano a concentración del 100%, se aplicó la técnica de dilución en microplaca y entre los resultados se halló que para la *E. coli* la concentración bactericida mínima media fue de 0,35 %, detectando un halo de inhibición de $29,5 \pm 3,4$ mm. Dicho estudio considera que el efecto antibacteriano es de un halo de inhibición a partir de 4 mm. De sus componentes se encontró que a mayor concentración presentó: α terpineno, 4 terpineol y timol, en cambio en menor concentración se encontró el carvacrol.

Martinez J.¹⁶ (Ecuador, 2017), buscó establecer el crecimiento bacteriano y determinar la CMI, CBM y sensibilidad bacteriana del extracto oleoso del romero; para ello se necesitó que esta planta estuviera a cuatro concentraciones: 20%, 40%, 60% y 80%. Se manipuló placas Petri que contenían las concentraciones ya mencionadas y como

resultado se obtuvieron las siguientes mediciones con respecto a sus halos de inhibición: 5.55mm, 6.80 mm, 9.10 mm y 10.90 mm respectivamente, siendo las dos últimas concentraciones las que presentaron mayor potencia del efecto antibacteriano además de ser iguales estadísticamente; este resultado se obtuvo gracias a la aplicación de la prueba de Tukey.

López E.¹⁷ (Ecuador, 2018), estudió tanto la CMB como el efecto antibacteriano del orégano a tres concentraciones: 30%, 60% y 90%, sobre dos cepas, entre ellas estando presente la *E. coli*. Dicho efecto se evaluó mediante la medición de halos de inhibición promedio, obteniendo como resultados que al 30% su halo de inhibición fue de 13.01 mm, al 60% de 17.62 mm y al 90% de 16.05 mm. Se encontró que en el ANOVA las concentraciones de mayor porcentaje del orégano (60% y 90%) frente a la *E. coli* no son significativamente diferentes.

Amadio C. et al¹⁸ (Argentina, 2011) utilizaron dos tipos de orégano, una subespecie llamada *Origanum x majoricum*, y el *Origanum x aplii*, conocido como híbrido porque se generó a partir de la combinación del *O. vulgare* más el *O. majoricum*; de ambas plantas se evaluó su efecto antibacteriano en ciertas bacterias, incluyendo Gram positivas y Gram negativas, siendo una de las principales la *E. coli*. Como resultados se halló que a concentración del 100%, el diámetro de halo de inhibición promedio del *Origanum x majoricum* frente a dicha bacteria fue de 17 mm, encontrándose en la clasificación como “muy sensible”; mientras que el halo de inhibición encontrado en el *Origanum x aplii* fue de 12.5 mm, perteneciendo a la clasificación de “sensible”.

Rondón R.¹⁹ (Tacna, 2013), estudió las concentraciones de romero en mg/mL; se utilizaron 8 grupos a las siguientes concentraciones en mg/mL: 2.23, 4.45, 6.68, 8.91, 11.14, 13.36, 15.59 y 17.82. Se realizaron cuatro repeticiones de cada concentración, encontrando que de las efectuadas a las 24 horas, a partir del grupo 3 (6.68 mg/mL que equivale a 60%) presentaron un halo de inhibición promedio de 11.5 mm, el mismo que creció conforme la concentración del romero aumentó, llegando a 50 mm al 15.59 mg/mL y ya no presentando crecimiento bacteriano en la concentración de 17.82 mg/mL.

Chávez L, et al²⁰ (Lima, Perú, 2008) realizaron un estudio experimental in vitro usando la *E. Coli*, el aceite esencial de orégano y un fármaco perteneciente a la familia

de los aminoglucósidos: gentamicina, aplicando el método de Kirby Bauer. El grupo de experimentación fue embebido con gentamicina y aceite esencial de orégano al 75%; en cambio el grupo control solo gentamicina. El resultado obtenido fue en halos de inhibición; en el grupo de experimentación se obtuvo 22.4 mm., mientras en el grupo control: 20.8 mm. En la parte estadística se encontró que la diferencia era significativa en ambos tratamientos ($p = 0,001$); se concluyó que sí hay un efecto sinérgico antibacteriano en las variables estudiadas contra la *E. coli*.

Apares R.²¹ (Trujillo, 2016), en un estudio experimental determinó que la asociación de aceite esencial de *Origanum vulgare* y amikacina (grupo experimental), fue más efectiva que Amikacina sola (grupo control) en cepas de *E. coli*. Se halló que los halos de inhibición contra *E. coli* para el *Origanum vulgare* más amikacina fue de un halo de inhibición de 30.8 mm, mientras que para amikacina fue de 30.0 mm.

Carillo J.²² (Trujillo. 2018) evaluó el efecto antibacteriano de dos plantas contra cepas de *E. coli*. Una de ellas fue el romero y se utilizó a cuatro concentraciones: 5%, 10%, 25% y 100%. Los resultados se obtuvieron mediante la medición de sus halos de inhibición. Se encontró que al 5% el halo de inhibición promedio fue de 8.06 mm, al 10% se obtuvo un halo de 10.94mm, al 25% el halo fue de 10.25 mm y al 100% el halo encontrado fue de 18.38 mm. En este estudio se utilizó la escala de Duraffourd, que permitió clasificar la sensibilidad del efecto antibacteriano del romero al 100% (18.38mm) como “medio”.

1.3. TEORÍAS RELACIONADAS AL TEMA

El nombre científico del orégano es *Origanum vulgare lamiaceae*, siendo una planta que entre sus características se tiene que: presenta una fina raíz, hojas que son tanto anchas como opuestas y flores que se agrupan de tres. Dentro de sus principios activos se encuentran los ácidos-fenoles, flavonoides y aceites esenciales, lo que le da ciertas propiedades que benefician a la secreción de jugos gástricos en el estómago y sirven como un poderoso antibiótico; esto permite su uso en enfermedades digestivas, para el alivio de tos o incluso en uso de heridas en piel.²³

Esta planta es poseedora de un aceite esencial que tiene una serie de compuestos activos, siendo los más abundantes los fenoles: carvacrol (cimofenol) y timol; estos se consideran que son los responsables de su actividad antibacteriana, los que a su vez tienen mayor efecto en bacterias Gram negativas que en Gram positivas. Se encontró que el orégano cuenta con un porcentaje de 80% de carvacrol, seguido del timol con 64%. Se destaca que la acción antibacteriana es debido al lugar donde actúan dichos componentes, que es en la membrana citoplasmática y la pared de la bacteria.^{24,25}

Origanum significa hierba amarga y también se le conoce con el nombre de Labiatae. Esta planta presenta como una característica su sabor amargo y picante. Es debido a sus propiedades contra hongos y bacterias que actualmente se realizan diversos estudios en base a esta planta. El aceite del orégano posee tanto efecto antioxidante como antimicrobiano y sus beneficios radican en el sistema nervioso, cardiovascular y de regulación de la glucosa y colesterol. El mecanismo de acción de la planta radica en que sus componentes: cavacrol y timol, aumentan la permeabilidad de los protones e iones de la membrana de la bacteria, lo que ocasiona esta pierda su integridad y todos aquellos elementos fundamentales como el ATP y ácidos nucleicos, son movidos. En relación de la *E. coli*, el carvacrol actúa inhibiendo una enzima: ATPasa, lo que incita a que las proteínas pasen por un choque térmico, causando a nivel de la bacteria que haya una disminución de la motilidad, impidiendo así el desarrollo de los flagelos.²⁶

El *Origanum vulgare* posee un nivel alto de actividad tanto antimicrobiana como antimicótica con sus componentes: el carvacrol y el timol, siendo este último el más activo. Actualmente se conoce que la acción bactericida y bacteriostática es del cavacrol y no del timol. Usualmente esta planta crece en un clima que es frío y templado y se desarrolla a 1.500 y 2.500 metros sobre el nivel del mar. La forma en

que se usa es en infusión: calentando primero en una olla el agua y agregando una cucharadita tanto de hojas como de flores. Sin embargo, en ciertas situaciones se recomienda que su consumo no sea frecuente, como en mujeres que están embarazadas.²⁷

El nombre científico del romero es *Rosmarinus officinalis*, pertenece también a la familia *Lamiaceae* y es nativo de la región del Mediterráneo; se caracteriza por ser un arbusto que puede llegar a medir hasta 1 metro, y que presenta hojas pequeñas y flores azuladas. Entre sus compuestos activos se encuentra: pigmentos flavónicos (apigenina, luteolina), ácidos rosmarínicos y el aceite esencial (poseedor hasta 2,5% de pineno, canfeno, cineol y bordeol).²⁸

Esta planta presenta aceites volátiles y dentro de sus compuestos se encuentra del 20% al 25% el 1,8 cineol (eucaliptol), del 15% al 25% el alfa pineno y de 10% al 25% el alcafor, incluyendo además otros componentes como: terpineol, flavonoides como la apigenina, ácido fenólico y ácido rosmarínico, Son los fenoles presentes en las hojas del romero los que brindan tanto la actividad antioxidante como la antibacteriana, siendo esta última potente en cepas como la *E. coli*.^{29,30}

Tiene diversos usos debido a sus propiedades, de las cuales destacan: analgésica, antibacteriana, antifúngica y antiséptica. La forma tradicional en que se utiliza el romero es diluido en una taza de agua, usando una cantidad de 2 gramos de dicha planta. Está contraindicado durante la gestación y la lactancia debido a su efecto uterotónico y que podría ocasionar abortos. Debido a que contiene alcanfor se debe evitar su uso en personas que sufren de convulsiones. Sobre el mecanismo de acción frente a la *E. coli*, se conoce que se usa el aceite esencial del romero por contener el carnosol y al ácido ursólico.³¹

Los aceites esenciales o aceites volátiles, o comúnmente denominados esencias, constituyen sustancias aromáticas naturales, que producen las fragancias de flores y otras partes de ciertos vegetales. En la actualidad se obtienen mediante arrastre en corriente de vapor de agua.³²

Las Enterobacteriaceae son un grupo conformado por bacilos gramnegativos que habita en el intestino tanto de los seres humanos como en el de los animales. Dentro de esta familia existe una gran cantidad de géneros tales como: *Escherichia*, *Shigella*,

Salmonella, Enterobacter, Klebsiella, Serratia, Proteus. Sin embargo, no todos son patógenos, algunos pertenecen a la microflora normal como es el caso de *E. coli*, pero en ciertos casos esta es capaz de generar infecciones. Entre sus características se encuentra que pueden ser móviles, no móviles o peritricosos, son aerobios y anaerobios, catalasa + y oxidasa -. La *E. coli* es un anaerobio que forma colonias circulares, convexas y lisas con borde distintivo, algunas cepas producen hemólisis en agar sangre.³³

Dentro de los aminoglucósidos se ubica a la gentamicina, un antibiótico que tiene acción bactericida. Este grupo actúa preferentemente en bacterias Gram negativas pero también en el de las Gram positivas, encontrándose en el primer grupo la *E. coli*. Una de las razones por la que se considera a los aminoglucósidos medicamentos de primera elección es debido a que tienen un bajo costo.³⁴

El grupo de los aminoglucósidos actúan destruyendo de forma rápida las bacterias, sin embargo, este efecto depende de la concentración en que se les administre dicho fármaco a las personas, teniendo una relación directa, puesto que a mayor concentración se aumenta la velocidad de eliminación de las bacterias. Además, presenta una característica importante que es su efecto posantibiótico, es decir que perdura su efecto bactericida pese a que hay una disminución de su concentración sérica. Se sabe que su efecto se vuelve más potente si es que al tratamiento se le agrega un beta lactámico. Entre sus efectos adversos los que más destacan son: la ototoxicidad, que es irreversible y la nefrotoxicidad, que es reversible; afectando a nivel vestibular, coclear y renal. Su uso con beta lactámicos se justifica debido a que estos ayudan actuando en la pared celular y que evitan que se genere una resistencia a fármacos dados de forma individual. Actúa uniéndose a la subunidad 30 que se encuentra en el ribosoma, de esta forma interfiere en el proceso usual de síntesis de proteínas, lo que genera una serie de proteínas no funcionales.³⁵

Se define como antimicrobiano a aquella sustancia elaborada artificialmente o de tipo natural cuyo principio activo tiene efecto antibióticos, los cuales son sintetizados de manera química o son productos que se derivan de un microorganismo, quienes tienen actividad bactericida, eliminando el microorganismo o retrasando su multiplicación, aplicando un mecanismo inhibitorio en la síntesis de la membrana celular del referido microorganismo y modificando la síntesis proteica como también la síntesis de los

ácidos nucleicos. lo que altera la estructura celular y el proceso de biosíntesis del microorganismo.³⁶

1.4. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿En qué medida el aceite esencial del *Origanum vulgare* y *Rosmarinus officinalis* tienen efecto antibacteriano in vitro sobre *Escherichia coli* ATCC11229 comparado con gentamicina?

1.5. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

El consumo irracional de los antibióticos que se disponen en la actualidad, originan en algunos casos cuadros tóxicos severos, otros ocasionan recurrencia y la gran mayoría finalmente producen resistencia bacteriana, motivo por el cual se está buscando nuevos antimicrobianos cada vez más potentes y de alta seguridad terapéutica que los actuales. Se eligió al *Origanum vulgare* y *Rosmarinus officinalis* por ser productos naturales y usados como alternativos por sus características medicinales, describiéndose su acción antibiótica. La acción bactericida de estas dos plantas será comparada con el fármaco cuyo principio activo es la gentamicina, producto terapéutico usado con mucha frecuencia, especialmente en las infecciones debidas a bacterias Gram negativas entre las que se encuentra la *Escherichia coli*.

Las conclusiones brindarán información para corroborar el efecto antibacteriano que se atribuye al *Origanum vulgare* y al *Rosmarinus officinalis*; debido a la presencia de principios activos como el carvacrol, el timolol y los precursores de estos que son: el γ -terpineno y el p-cimeno, producto de ensayos experimentales y clínicos aleatorizados, además de la evaluación fito-farmacológica y actividad terapéutica en las personas, tanto a nivel funcional como molecular, de tal forma que se considere su consumo como medicina alternativa, incentivando su industrialización y finalmente su comercialización.

1.6. HIPÓTESIS

H1: El aceite esencial de *Origanum vulgare* y *Rosmarinus officinalis* tienen efecto antibacteriano in vitro sobre *Escherichia coli* ATCC11229 comparado con gentamicina.

H0: El aceite esencial de *Origanum vulgare* y *Rosmarinus officinalis* no tienen efecto antibacteriano in vitro sobre *Escherichia coli* ATCC11229 comparado con gentamicina.

1.7. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Determinar el efecto antibacteriano in vitro del *Origanum vulgare* y *Rosmarinus officinalis* sobre *Escherichia coli* ATCC11229 comparado con gentamicina.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar el efecto antibacteriano in vitro del *Origanum vulgare* y *Rosmarinus officinalis* sobre *Escherichia coli* ATCC11229 a las 24 horas de experimentación.
- Determinar el efecto antibacteriano in vitro de la gentamicina sobre *Escherichia coli* ATCC11229 a las 24 horas de experimentación.

II. MÉTODO

2.1. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

Se utilizó un estudio experimental con post prueba en dos grupos: el experimental y el control a los que se aplicó el azar el antibiótico.

RG1	X1	O1
RG2	X2	O2
RG3	X3	O3
RG4	X4	O4
RG5	X5	O5
RG6	X6	O6
RG7	X7	O7
RG8	X8	O8

Donde:

G1: Aceite esencial del orégano al 100%

G2: Aceite esencial del orégano al 75%

G3: Aceite esencial del orégano al 50%

G4: Aceite esencial del romero al 100%

G5: Aceite esencial del romero al 75%

G6: Aceite esencial del romero al 50%

G7: Tratamiento estándar con gentamicina

G8: Tratamiento con DMSO

O: Las observaciones en este caso fueron posteriores al estímulo, porque no hubo medición basal.

2.2. VARIABLES, OPERACIONALIZACIÓN

Variables Independientes: Aceite esencial de *Origanum vulgare*, *Rosmarinus officinalis* y gentamicina.

Variable Dependiente: efecto antibacteriano

Operacionalización

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
Variable independiente: Tto. Antibacteriano	El tratamiento que fue utilizado, incluye a los aceites esenciales, que son sustancias aromáticas halladas en las diferentes partes de las plantas y que se encuentran conformados por una base lipídica. Entre sus métodos de obtención se tienen: la centrifugación, refrigeración, destilación, entre otros. ³²	El aceite esencial tuvo una concentración de 250 μ /ml dividido en las siguientes concentraciones: Orégano al 100% Orégano al 75% Orégano al 50% Romero al 100% Romero al 75% Romero al 50% Gentamicina DMSO	G1 G2 G3 G4 G5 G6 G7 G8	Cualitativa nominal

Variable dependiente: Efecto antimicrobiano	Efecto antimicrobiano es la capacidad que tiene toda sustancia para evitar el crecimiento de bacterias, incluso de provocar su lisis. ³⁵	Se tomó en cuenta el halo de diámetro de inhibición en mm, considerando eficaz cuando se halla sensibilidad en el producto antibiótico. 1. Sensible 2. Intermedio 3. Resistente ³⁷	 ≥ 15 mm. 13 - 14 mm ≤ 12 mm ³⁷	Cualitativa ordinal
--	---	--	---	---------------------

2.3. POBLACIÓN Y MUESTRA

POBLACION:

Estuvo constituida por todas las cepas de *Escherichia Coli* ATCC11229 cultivadas en placas Petri con extracto de *Origanum vulgare* y *Rosmarinus officinalis*.

MUESTRA:

Estuvo constituida por los cultivos de *Escherichia Coli* distribuidos en las 14 placas Petri con los discos que contenían al aceite esencial de *Origanum vulgare* y *Rosmarinus officinalis*.

En el estudio se aplicó la siguiente muestra:

$$n = \frac{2 * (Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 S^2}{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)^2}$$

Donde:

$Z_{1-\frac{\alpha}{2}}=1.96$ Asumiendo un nivel de confianza de 95%.

$Z_{1-\beta} = 0.842$ Asumiendo una potencia de 80%.

$S_1= 1,46$ según Chávez²⁰

$S_2= 1,51$ según Chávez²⁰

$\bar{X}_1= 22.37$ según Chávez²⁰

$\bar{X}_2= 20.75$ según Chávez²⁰

$n = 14$ repeticiones

Unidad de análisis:

Cada unidad formadora de colonia de *Escherichia coli* ATCC11229.

Unidad de muestreo:

Estuvo constituida por cada placa Petri que contuvo el medio de cultivo de la *Escherichia coli* ATCC11229.

MUESTREO

Aleatorio simple.

2.4. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS, VALIDEZ Y CONFIABILIDAD

LA TÉCNICA: Observación experimental

PROCEDIMIENTO:

Luego de obtener el permiso para ejecutar el presente proyecto, se trabajó en un laboratorio de microbiología, donde se obtuvo el aceite esencial del *Origanum vulgare* y del *Rosmarinus officinalis* y las diluciones que se aplicaron a las cepas de *E. coli* ATCC11229.

Así mismo, se preparó el inóculo y se probó el efecto antibacteriano. El detalle del procedimiento se muestra en el anexo 1.

INSTRUMENTO:

Se utilizó una ficha de observación para el recojo de información donde se indicó el número de placas de cultivo y las diluciones (Anexo 2).

VALIDACIÓN Y CONFIABILIDAD DEL INSTRUMENTO

El instrumento fue validado por opinión de dos expertos en laboratorio, quienes evaluaron las variables de estudio y los ítems considerados en la ficha de recolección de datos y determinaron si eran relevantes al estudio.

2.5. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS

El programa utilizado fue el SPSS versión 25 y posteriormente y con el fin de determinar el análisis estadístico, se procedió a realizar la prueba de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas.

Con respecto a la normalidad, se aplicó la prueba de Shapiro – Wilk, debido a que la muestra fue pequeña y menor de 35, mientras que para la homogeneidad de varianzas se utilizó la prueba de Levene.

Para probar la normalidad se utilizó la prueba “ANOVA” debido a que los resultados fueron significativos se aplicó la prueba Post Hoc: prueba de Tukey, para conocer cuál era el mejor tratamiento.

Debido a que cumplió con la normalidad, pero no con la homogeneidad se utilizó la prueba T3 de Dunnett.

2.6. ASPECTOS ÉTICOS

Se obtuvo la resolución del Decanato por la ejecución del proyecto y se aplicó las normas éticas en este trabajo, respetaron las normas de no dañar al medio ambiente.³⁸

III. RESULTADOS

TABLA N° 1: Efecto antibacteriano in vitro del *Origanum vulgare* y *Rosmarinus officinalis* sobre *Escherichia coli* ATCC11229 comparado con gentamicina.

TRATAMIENTO	Efecto antimicrobiano					
	Resistente		Intermedio		Sensible	
	Recuento	%	Recuento	%	Recuento	%
Orégano 100%	0	0%	0	0%	14	100%
Orégano 75%	0	0%	2	14.3%	12	85.7%
Orégano 50%	14	100%	0	0%	0	0%
Romero 100%	0	0%	6	42.9%	8	57.1%
Romero 75%	14	100%	0	0%	0	0%
Romero 50%	14	100%	0	0%	0	0%
Gentamicina	0	0%	0	0%	14	100%

FUENTE: Ficha de recolección de datos

ELABORACIÓN: Propia

INTERPRETACIÓN: Se encontró que la gentamicina y el orégano al 100% en su totalidad fueron sensibles, mientras que el orégano al 75% presentó una sensibilidad del 85.7% y el romero al 100% una sensibilidad de 57.1%.

TABLA N° 2: ANOVA del efecto antibacteriano in vitro del *Origanum vulgare* y *Rosmarinus officinalis* sobre *Escherichia coli* ATCC11229 comparado con gentamicina.

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	4484.06	6	747.34	406.71	0.000
Dentro de grupos	167.21	91	1.84		
Total	4651.27	97			

FUENTE: Ficha de recolección de datos

ELABORACIÓN: Propia

INTERPRETACIÓN: Se determinó la presencia de diferencia significativa entre los halos promedio de los tratamientos administrados ($p=0.000 < 0.05$)

TABLA N° 3: Estadísticas descriptivas del halo de inhibición del *Origanum vulgare* y *Rosmarinus officinalis* sobre *Escherichia coli* comparado con gentamicina.

TRATAMIENTO	N	Media	Desv. Estándar	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo
					Límite inferior	Límite superior	
Orégano 100%	14	21.93	2.73	0.730	20.35	23.51	15
Orégano 75%	14	15.64	1.39	0.372	14.84	16.45	13
Orégano 50%	14	10.43	1.09	0.291	9.80	11.06	9
Romero 100%	14	14.64	0.84	0.225	14.16	15.13	13
Romero 75%	14	9.64	0.74	0.199	9.21	10.07	9
Romero 50%	14	0.00	0.00	0.000	0.00	0.00	0
Gentamicina	14	19.64	1.01	0.269	19.06	20.22	18

FUENTE: Ficha de recolección de datos

ELABORACIÓN: Propia

INTERPRETACIÓN: El efecto antibacteriano del *Origanum vulgare* se evidenció de forma más potente a partir de una concentración de 75% con un halo de inhibición media de $15,64 \pm 1.39$ mm, llegando a un halo de inhibición medio de 21.93 ± 2.73 mm a una concentración de 100%, mucho mayor que la gentamicina cuyo halo de inhibición medio fue de $19,64 \pm 1.01$ mm.

TABLA N° 4: Comparación del efecto antibacteriano in vitro de los diferentes tratamientos usando la prueba T3 de Dunnet.

TRATAMIENTO		Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					inferior	superior
Orégano 100%	Orégano 75%	6,286*	0.819	0.000	3.47	9.10
	Orégano 50%	11,500*	0.786	0.000	8.76	14.24
	Romero 100%	7,286*	0.764	0.000	4.58	9.99
	Romero 75%	12,286*	0.756	0.000	9.59	14.98
	Romero 50%	21,929*	0.730	0.000	19.27	24.59
	Gentamicina	2.286	0.778	0.151	-0.44	5.01
Orégano 75%	Orégano 50%	5,214*	0.473	0.000	3.63	6.79
	Romero 100%	1.000	0.435	0.422	-0.48	2.48
	Romero 75%	6,000*	0.422	0.000	4.56	7.44
	Romero 50%	15,643*	0.372	0.000	14.29	17.00
Orégano 50%	Romero 75%	0.786	0.353	0.467	-0.40	1.97
	Romero 50%	10,429*	0.291	0.000	9.37	11.49
Romero 100%	Orégano 50%	4,214*	0.368	0.000	2.98	5.45
	Romero 75%	5,000*	0.300	0.000	4.00	6.00
	Romero 50%	14,643*	0.225	0.000	13.82	15.46
Romero 75%	Romero 50%	9,643*	0.199	0.000	8.92	10.37
Gentamicina	Orégano 75%	4,000*	0.460	0.000	2.46	5.54
	Orégano 50%	9,214*	0.397	0.000	7.89	10.53
	Romero 100%	5,000*	0.351	0.000	3.83	6.17
	Romero 75%	10,000*	0.335	0.000	8.88	11.12
	Romero 50%	19,643*	0.269	0.000	18.66	20.62

FUENTE: Ficha de recolección de datos

ELABORACIÓN: Propia

INTERPRETACIÓN: En la siguiente tabla se encontró que la concentración del orégano al 100% comparada con gentamicina, la del orégano al 75% con romero al 100% y del orégano al 50% con romero al 75% no presentaron diferencia significativa, pudiendo ser entre dichos pares equivalente a su uso. Mientras que el resto de tratamientos evidenció diferencias significativas.

IV. DISCUSIÓN

La presente investigación consta de un estudio experimental donde se utilizó 8 muestras con 14 repeticiones, aplicando tratamientos de gentamicina, orégano y romero al 50%, 75% Y 100%.

Se utilizó el análisis de varianza, con el que se encontró una diferencia significativa de los tratamientos administrados ($p=0.000 < 0.05$) (Tabla 2). Al grupo experimental se le aplicó el aceite esencial tanto del orégano como del romero a concentraciones de 50%, 75% y 100% así como la sustancia antibiótica; dentro de los grupos control estuvo el negativo, al que se aplicó DMSO, en cambio al grupo control positivo se aplicó gentamicina. López E.¹⁷ (Ecuador, 2018) también utilizó el ANOVA, encontrando que en el tratamiento basado en orégano, las concentraciones al 60% y 90% frente a la *E. coli* no fueron significativamente diferentes ($p < 0.05$). En cambio Chávez L, et al²⁰ (Lima, Perú, 2008) en su estudio del efecto sinérgico antibacteriano contra la *E. coli* de los tratamiento de la gentamicina y el orégano en sinergia con gentamicina, utilizó la prueba T, con la que concluyó que la diferencia era estadísticamente significativa, $p = 0,001$ ($p < 0,05$).

Dentro de la clasificación establecida, el actual estudio encontró que las 14 placas de orégano al 100% fueron sensibles, en cambio al 75% la sensibilidad solo estuvo presente en un 85.7% (12 placas). Con respecto al romero, la sensibilidad estuvo presente en un 57.1% en su concentración del 100% (Tabla N°1). Se utilizó la prueba de T3 de Dunnett en la que se evidenció que no hay una gran diferencia (2.286) entre usar gentamicina o aceite esencial de orégano al 100% para patologías causadas por *E. coli*, como tampoco de usar gentamicina u orégano al 75% (4) ni de gentamicina con romero al 100% ya que su diferencia fue de 5 (Tabla N°4). En cambio, Martínez J.¹⁶ (Ecuador, 2017), utilizó para comparar su tratamientos la prueba de Tukey, con la que concluyó que las concentraciones del extracto oleoso de romero a 60% y 80% eran iguales estadísticamente.

En esta investigación se demostró el efecto antibacteriano del *Origanum vulgare* a partir de una concentración de 75% (halo de inhibición media de 15,64 mm), llegando a un halo máximo de inhibición media de 21.93 mm a una concentración de 100%, mucho mayor que la gentamicina que presentó un halo de inhibición de 19.64 mm (Tabla N°3).

Estos resultados son similares a los reportados por el estudio de Bastos M, et al (Brasil, 2011) quienes determinaron un efecto antibacteriano del *Origanum vulgare* solo a una concentración de 100%, con un halo de inhibición de $29,5 \pm 3,4$ mm. De otro lado, Chávez L, et al¹⁸ (Perú, 2008) realizaron un estudio utilizando grupo control y grupo experimental para identificar el efecto antibacteriano del *Origanum vulgare* asociado a gentamicina, donde se evidenció un efecto más potente en la sinergia de las dos variables con un halo de inhibición promedio de 22.4 mm.

Otro estudio realizado por Apares R.¹⁵ (Trujillo, 2016) compararon el efecto antibacteriano de un grupo experimental conformado por el aceite esencial de orégano más la amikacina y un grupo control donde solo se usó amikacina, obteniendo como resultados un halo de inhibición de: 30.8 mm y de 30.0 mm respectivamente; así en dicho estudio se confirma que el efecto antibacteriano del orégano es más potente si se encuentra en sinergia con amikacina. El resultado más cercano a 30.8 mm en el actual estudio es con el orégano al 100% (21.93 mm). Sin embargo, en otro estudio realizado por López E. (Ecuador, 2018) que también evaluó el efecto antibacteriano del orégano, se obtuvo su máximo halo de inhibición promedio con el valor de 17.62 mm con la concentración de dicha planta al 60%, seguido de 16.05mm al 90%, una concentración de la que esperaba mayor efecto.

Amadio C. (Argentina, 2011) usó dos clases de orégano, siendo uno de ellos el resultado de la mezcla con el *Origanum vulgare*, y concluyendo que sí presentaban efecto antibacteriano puesto que sus halos encontrados fueron 17 mm en el caso del *Origanum x majoricum* y de 12.5 mm en referencia al *Origanum x aplii*, resultados similares se encontraron en el actual estudio con el orégano al 75% (15.64 mm).

Acerca del efecto antibacteriano del *Rosmarinus officinalis*, en el actual estudio se encontró que solo con la dilución al 100% presentó efecto antibacteriano, clasificándose como “intermedio” y con un halo de inhibición promedio de 14.64 mm. Entre otros estudios, en el realizado por Martinez J.¹³ (Ecuador, 2017), se puede evidenciar que el efecto antibacteriano tampoco es potente pese a presentar una concentración de romero al 80% ya que se obtuvo 10.90 mm en su halo de inhibición promedio.

Rashid K. (Irak, 2010) utilizó el romero a una concentración de 64 $\mu\text{l/ml}$, equivalente al 60% del romero, se obtuvo un halo de inhibición de 19 mm; en relación a sus componentes, en mayor porcentaje presentó alcanfor (20.54%) y verbenona (12.71 %). Rondón (Tacna, 2013) encontró que a concentración de 4.45 mg/ml, equivalente a 40 %, ya se presenta un efecto antibacteriano con un halo de inhibición de 11 mm, clasificándose como “sensible”; encontrando que a concentración de 8.91 mg/mL (80%) es “muy sensible” puesto que su halo de inhibición aumenta a 15.75 mm

Carillo J. (Trujillo. 2018) corrobora que el romero tiene efecto antibacteriano, mientras que al 25 % presenta un efecto mucho menos potente con 10.25 mm en su halo de inhibición; al 100 % su efecto es más potente, obteniendo un halo de inhibición promedio de 18.38 mm. Frente a esto resultados, Hussain, A. et al. (Irlanda, 2010) también obtuvieron que el romero a 100 % tuvo un halo de inhibición promedio de 14.3 ± 0.7 mm frente a *E. coli*; a su vez en este estudio se encontró que el aceite esencial de dicha planta presentó como componentes principales a los monoterpenos oxigenados en un 67%, de ellos destacando el 1,8- cineol con $38.5 \pm 1.1\%$, siendo el responsable de su efecto antibacteriano; esta variación de resultados en estos dos estudios pese a la misma concentración utilizada del romero (100%) se debe a su diferente origen del cultivo, puesto que mientras la primera fue obtenida de cultivos de Trujillo, la segunda fue cultivada en Pakistán.

Bastos M, et al¹⁵ (Brasil, 2011) encontró dentro de los componentes del romero, a mayor concentración: α terpineno, 4 terpineol y timol, mientras que según Hussain, A. et al.¹³ (Irlanda, 2010), el romero presentó en mayor concentración: 1,8 cineol, seguido de alcanfor y pineno. Este cambio de concentraciones de dichos componentes y la presencia de estos en cada planta puede explicar la potencia del efecto antibacteriano dependiendo de la concentración de su aceite esencial.

V. CONCLUSIONES

- El romero y orégano sí presentan efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli*.
- Con respecto al orégano se demostró que existe actividad antibacteriana a concentraciones de 75% y 100%, mientras que el romero solo a concentración del 100%.
- La gentamicina presenta efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli*.

VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda el uso del aceite esencial de orégano en concentraciones de 100% para patologías causadas por *E. coli*.
- Se recomienda también la realización de más estudios experimentales in vitro en animales, donde se utilicen las mismas plantas y la dosis correcta de cada una de ellas, además de la medición mediante halos inhibitorios.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Mundial de la Salud. *E. coli*. Nota descriptiva Washington. Centro de prensa e información de la OMS. 2017. (Citado 12 de octubre del 2017). Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/es/>
2. Organización Mundial de Gastroenterología. Guía Práctica. Diarrea aguda en adultos y niños: una perspectiva mundial. 2012. (Citado 12 de agosto del 2017). Disponible en: <http://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/acute-diarrrhea-spanish-2012.pdf>
3. Ochoa T, Mercado E, Durand D, Rivera F, Mosquito S, Contreras C, et al. Frecuencia y patotipos de *Escherichia coli* diarrogénica en niños peruanos con y sin diarrea. Rev Peru Med Exp Salud Pública. 2011; 28(1): 13-20. (Citado 12 de setiembre del 2017). Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/Medicina_Experimental/v28_n1/pdf/a03v28n1.pdf
4. Riveros M, Ochoa T. Enteropatógenos de importancia en salud pública. Rev Perú Med Exp Salud Pública. 2015;32(1): 17-64. (Citado 19 de agosto del 2017). Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v32n1/a22v32n1.pdf>
5. Natura Foundation. Aceite de orégano silvestre. Terapia ortomolecular. Madrid. Natura Foundation. 2013. (Citado 2 de agosto 2017) Disponible en: <http://www.naturafoundation.es/?objectID=45&action=pdf&id=41494>
6. Muñoz L. Acta Botánica Malacitana Plantas Medicinales Españolas: *Origanum Vulgare* L. (*Lamiaceae*) (Orégano). 2002;27(1): 273-280. (Citado 19 de agosto del 2017). Disponible en: http://www.biolveg.uma.es/abm/volumenes/vol27/27_munozcenteno.pdf
7. Albado E, Saez G, Gabriel S. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial del *Origanum vulgare* (orégano). Rev Med Hered 2001;12(1):16-19. (Citado 4 de setiembre del 2017). Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X2001000100004
8. Sienkiewicz M, Wasiela M, Głowacka A. The antibacterial activity of oregano essential oil (*Origanum heracleoticum* L.) against clinical strains of *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. Med Dosw Mikrobiol. 2012;64(4): 297-307.

(Citado 23 de agosto del 2017). Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/m/pubmed/23484421/>

9. Ávila R, Navarro A, Vera O, Dávila R, Melgoza N, Meza R. Romero (*Rosmarinus officinalis* L.): una revisión de sus usos no culinarios. Ciencia y Mar. 2011;15(43): 23-36. (Citado 21 de abril del 2018). Disponible en:
<http://www.umar.mx/revistas/43/0430103.pdf>
10. Cox S, Gustafson J, Mann C, Markham J, Liew Y, Hartland R, et al. Tea tree oil causes K⁺ leakage and inhibition respiration in *Escherichia coli*. Lett Appl Microbiol. 1998; 26(5): 355-358. (Citado 19 de agosto del 2017). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9674165>
11. Coy C, Acosta G. Actividad antibacteriana y determinación de la composición química de los aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis*), tomillo (*Thymus vulgaris*) y cúrcuma (*Curcuma longa*) de Colombia. Rev Cubana Plant Med. 2013;18(2):237-246. (Citado 19 de agosto del 2017). Disponible en:
<http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v18n2/pla07213.pdf>
12. Castaño H, Ciro G, Zapata M, Jiménez S. Actividad bactericida del extracto etanólico y del aceite esencial de hojas de *Rosmarinus officinalis* L. sobre algunas bacterias de interés alimentario. VITAE. 2010;17(1): 149-154. (Citado: 19 de agosto del 2017). Disponible en:
<https://aprendeenlinea.udea.edu.co/revistas/index.php/vitae/article/viewFile/6334/5835>
13. Hussain A, Anwar F, Shahid S, Jabbar A., Mahboob S, Nigam P. *Rosmarinus officinalis* essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. Brazilian Journal of Microbiology. 2010;41(1): 1070-1078. (Citado 15 de marzo del 2018). Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/bjm/v41n4/27.pdf>
14. Rashid K. Antimicrobial Activity of Rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.) Leaf Essential Oils Against Three Bacterial Species. Al- Mustansiriya J. Sci . 2010; 21(4): 1-8. (Citado 15 de marzo del 2018). Disponible en:
<https://www.iasj.net/iasj?func=fulltext&aId=77503>
15. Bastos M, Damé L, de Souza L, Almeida D, Alves M, Braga J. Actividad antimicrobiana de aceite esencial de *Origanum vulgare* L. ante bacterias aisladas en leche de bovino. Rev Cubana Plant Med. 2011;16(3): 260-266.

(citado 4 de setiembre del 2017) Disponible en:
<http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v16n3/pla06311.pdf>

16. Martínez J. Evaluación del efecto bactericida del extracto de romero (*Rosmarinus officinalis*) in vitro en cepa certificada de *Escherichia coli*. Tesis. Ecuador: Universidad técnica de Ambato; 2017. (Citado el 21 de abril del 2018). Disponible en:
<http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/25103/1/Tesis%2081%20Medicina%20Veterinaria%20y%20Zootecnia%20-CD%20472.pdf>
17. López E. Efecto antimicrobiano in vitro del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) sobre cepas certificadas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Tesis. Ecuador: Universidad técnica de Ambato; Ecuador; 2018. (Citado el 21 de abril del 2018). Disponible en:
<http://repo.uta.edu.ec/bitstream/123456789/27546/1/Tesis%20130%20Medicina%20Veterinaria%20y%20Zootecnia%20-CD%20568.pdf>
18. Amadio C, Medina R, Dediol C, Zimmermann M, Miralles S. Aceite esencial de orégano: un potencial aditivo alimentario. Rev. FCA UNCUIYO. 2011;43(1): 237-245. (Citado el 21 de abril del 2018). Disponible en:
http://bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/3927/amadio.pdf
19. Rondón R. Evaluación antimicrobiana in vitro del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L. “romero” frente a bacterias patógenas Grampositivas y Gramnegativas. Tesis. Tacna: Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann 2013. (Citado el 21 de abril del 2018). Disponible:
http://200.37.105.196:8080/bitstream/handle/unjbg/286/171_2013_Rondon_Perez_RG_FACI_Microbiologia_2013.pdf?sequence=1
20. Chávez L, Díaz F, Escalante G, Estrada E. Efecto sinérgico del aceite esencial de *Origanum vulgare* a la Gentamicina en cultivos de *Escherichia coli*. CIMEL. 2008;13(2): 45-52. (Citado 2 de setiembre del 2017). Disponible en:
<https://www.cimel.felsocem.net/index.php/CIMEL/article/view/146/116>
21. Apares R. Efecto Sinérgico Antimicrobiano del Aceite Esencial de *Origanum vulgare* con Amikacina comparado con Amikacina en *Escherichia coli*, in Vitro. Tesis. Trujillo: Universidad Cesar Vallejo; 2016. (Citado 15 de setiembre del 2017). Disponible en:

http://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/UCV/540/apares_ar.pdf?sequence=1

22. Carillo J. Efecto antibacteriano in vitro de los aceites esenciales de las hojas de *Thymus vulgaris* (Tomillo) y *Rosmarinus officinalis* (Romero) frente a cepas de *Escherichia coli*. Tesis. Trujillo: Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote; 2018. (Citado 15 de setiembre del 2017). Disponible en: http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/5259/ACEITES_ESENCIALES_ESCHERICHIA_COLI_CARRILLO_%20SANTISTEBAN_J_AVIER.pdf?sequence=1&isAllowed=y
23. Braun L, Cohen M. Herbs & Natural Supplements: an evidence-based Guide. 2da ed. Australia: Elsevier; 2007.
24. Bauer K, Garbe D, Surburg H. Common Fragrance and Flavor Materials: preparation, properties and uses. 4ta ed. Alemania: Wiley-VCH; 2001.
25. Frazier W, Westhoff D. Microbiología de los alimentos. 4ta ed. España: McGraw- Hill; 1993.
26. Linares N. Plantas medicinales: cuaderno de trabajo. 2ª ed. Madrid: Centro de empresas de Loeches; 2013.
27. Vega J. Los secretos de las plantas: 50 plantas medicinales en su huerta. 3ª ed. España: Panamericana; 2014.
28. Nicolas J. Manual de plantas medicinales del altiplano de Guatemala para el uso familiar. 1era ed. Guatemala: Médicos descalzos; 2013.
29. Khare C. Indian Medicinal Plants. 1era ed. India: Springer; 2007.
30. Kaufman P, Cseke L, Warber S, Duke J, Briemann H. Natural Products from Plants. 1er ed. Florida: CRC Press; 1999.
31. Duke A, Bogenschutz M, DuCellier J, Duke P. Handbook of Medicinal Herbs. 2da ed. Florida: CRC Press; 2002.
32. Sánchez M. Los Aceites Esenciales: Los aceites esenciales: La Perfecta Medicina De La Naturaleza. Indiana: Balboa press; 2016.
33. Brooks G, Carroll K, Butel J, Morse S, Meitzner T. Microbiología médica. 25ª ed. México: Mc Graw Hill; 2010.
34. Comité de Medicamentos de la Asociación Española de Pediatría. Pediamécum. Barcelona. Edición 2015. (Citado 4 de setiembre del 2017). Disponible en: <http://pediamecum.es/gentamicina/>

35. Brunton L. Goodman & Gilman: Las bases farmacológicas de la terapéutica. 12a. ed. México DF. McGraw Hill México. 2012
36. Lorenzo P, Moreno A, Leza J, Lizasoain I, Moro M, Portolés A. Velázquez. Farmacología Básica y Clínica. 18^a ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2008.
37. Clinical and Laboratory Standards Institute Standards Institute. M 100: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Vol 38. 28th ed. Wayne: CLSI; 2018.
38. Normas Éticas de Trabajo. Resolución de Consejo Universitario. No 0126. Universidad César Vallejo (Mayo 23, 2017).
39. Servicio Nacional de Aprendizaje. Introducción a la industria de los aceites esenciales de plantas medicinales y aromáticas. Vol 1. 1era ed. Bogotá: SENA; 2012.

VIII. ANEXOS

ANEXO N° 1

Se consideraron 14 repeticiones de cada concentración de romero y orégano en 14 palacas Petri que contenían a la cepa de *Escherichia Coli* ATCC11229.

A) Obtención del *Origanum vulgare* y del *Rosmarinus officinalis*:

Se utilizó el *Origanum vulgare* (orégano) y el *Rosmarinus officinalis* (romero), los que se llevaron a un laboratorio de microbiología para su selección.

B) Obtención del Aceite Esencial de orégano:

Con la ayuda de un químico farmacéutico especialista en Farmacognosia de la universidad se procedió a la selección de manera manual, eliminando las hojas que no eran aptas.

El aceite esencial de la planta ya mencionada se obtuvo de hojas secas (6 Kg) mediante el proceso de destilación por arrastre de vapor de agua, hasta obtener 10 ml de aceite esencial. Para ello se colocó 3 Kg de orégano en cada canastilla de una autoclave, evitando que tuviera contacto directo con el agua; se procedió a calentar hasta la salida del vapor, el que a su vez contuvo aceite esencial de dicha planta, para después ser recogidos en una pera de decantación. Se dejó reposar el agua y aceite contenidos en la pera de decantación hasta que se obtuvo su separación.

El aceite obtenido se consideró la concentración de orégano al 100%, la misma que se sometió a desecarse con sulfato de sodio anhidro y después se filtró usando una bomba de vacío, finalmente fue depositado en un frasco herméticamente cerrado el cual fue almacenado en refrigeración hasta su uso.

C) Obtención del Aceite Esencial de romero:

Se aplicó el mismo procedimiento mencionado con el orégano.

D) Obtención de las concentraciones:

Del AE obtenidos del orégano y romero se obtuvieron tres concentraciones: 100%, 75% y 50%, mediante el uso de Dimetil Sulfóxido (DMSO).

Para la concentración del 75% se aplicó 750 μ L de AE y 250 μ L de DMSO, mientras que para la concentración de 50% se aplicó 500 μ L de AE y 500 μ L de DMSO.

E) Preparación del medio de cultivo

Se usó agar Mueller-Hinton, preparando este medio para 14 placas Petri.

Se esterilizó en autoclave a 121°C por un tiempo de 15 minutos y luego se procedió a colocar en placa de plástico (18 a 20 ml), para luego dejarlo en reposo hasta su solidificación.

F) Prueba de susceptibilidad (prueba de disco difusión en agar)

Se utilizó el método de Kirby-Bauer y los criterios establecidos por el CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute.

G) Preparación del inóculo

Obtenidas las cepas, éstas se cultivaron en tubos de ensayo que contenían el medio agar para *E. Coli* y que estuvieron cerrados herméticamente; estos se incubaron a 37°C. A las 24 horas se prepararon los inóculos, diluyendo a las bacterias de *E. coli* en una solución salina estéril, esto se realizó por un tiempo indeterminado, hasta que se logró una turbidez que asemejó al tubo número 0,5 de la escala de Mac Farland. Por cerca de 30 segundos se procedió a girar los tubos y luego se realizó el sembrado de las bacterias.

H) Siembra del microorganismo

Para sembrar la *Escherichia coli* primero se embebió con el inóculo un hisopo estéril y posteriormente se aplicó una capa en la superficie del medio de cultivo de cada una de las placas Petri.

I) Preparación de las concentraciones del AE

Del AE obtenidos del orégano y romero se obtuvieron tres concentraciones: 100%, 75% y 50%, mediante el uso de Dimetil Sulfóxido (DMSO).

Para la concentración del 75% se aplicó 750 μ L de AE y 250 μ L de DMSO, mientras que para la concentración de 50% se aplicó 500 μ L de AE y 500 μ L de DMSO.

J) Preparación de los discos de sensibilidad con AE

Con cada concentración, se colocó 10 µL en cada uno de los discos de papel filtro Whatman N° 1 (anteriormente esterilizados). Se tomó 10 µL de AE al 50% en un disco, 10 µL de AE al 75% en otro y 10 µL de AE al 100% en otro más, repitiendo esto 14 veces.

K) Confrontación del microorganismo con el agente antimicrobiano

Usando una pinza metálica se tomó cada uno de los discos de sensibilidad preparados, siendo de cada una de las diferentes concentraciones tanto del romero como del orégano y se colocaron en el agar sembrado que contenía a la *E. coli*. En el centro de la placa se colocó al control positivo, conformado por la gentamicina.

Lo obtenido se dejó reposar por un tiempo de 15 minutos para luego incubar cada placa a una temperatura de 35 a 37°C.

L) Lectura e interpretación

Se realizó la lectura a las 24 horas usando la regla Vernier que permitió medir la zona de inhibición de crecimiento microbiano.

Se evaluaron los resultados usando la escala del CLSI. Siendo:

SENSIBLE: ≥ 15 mm.

INTERMEDIO: 13 - 14 mm

RESISTENTE: ≤ 12 mm


ANEXO N° 2

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS VALIDADA

EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DEL *ORIGANUM VULGARE* Y *ROSMARINUS OFFICINALIS* SOBRE *ESCHERICHIA* *COLI* ATCC11229 COMPARADO CON GENTAMICINA

N° de repeticiones	HALO DE INHIBICIÓN (mm)							
	Aceite esencial de Orégano			Aceite esencial de Romero			Antibiótico	DMSO
	100%	75%	50%	100%	75%	50%	Gentamicina	
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								
13								
14								

Fuente: Elaboración propia


Dr. Steve I. Hurtado Escamilla
 MICROBIOLOGO CLINICO
 Especialista en Análisis Clínicos y Biológicos
 CUP: 2249 RNBE:0032
 RED ASISTENCIAL LA LIBERTAD
 #83 Salud


Dra. María Ayela R.

ANEXO N° 3

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DEL *ORIGANUM VULGARE* Y *ROSMARINUS OFFICINALIS* SOBRE *ESCHERICHIA* *COLI* ATCC11229 COMPARADO CON GENTAMICINA

N° de repeticiones	HALO DE INHIBICIÓN (mm)							
	Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i>			Aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i>			Antibiótico	DMSO
	100%	75%	50%	100%	75%	50%	Gentamicina	
1	25	18	11	14	9	0	20	0
2	20	15	10	14	10	0	22	0
3	20	16	11	16	9	0	20	0
4	22	14	9	14	9	0	19	0
5	21	15	10	15	9	0	20	0
6	24	16	12	15	11	0	18	0
7	20	15	10	13	9	0	20	0
8	22	13	9	15	10	0	20	0
9	24	17	12	14	10	0	20	0
10	24	15	11	15	9	0	19	0
11	24	16	12	15	10	0	20	0
12	25	18	10	16	9	0	18	0
13	21	16	9	14	11	0	19	0
14	15	15	10	15	10	0	20	0

ANEXO N° 4

TABLA N° 4: PRUEBA DE NORMALIDAD

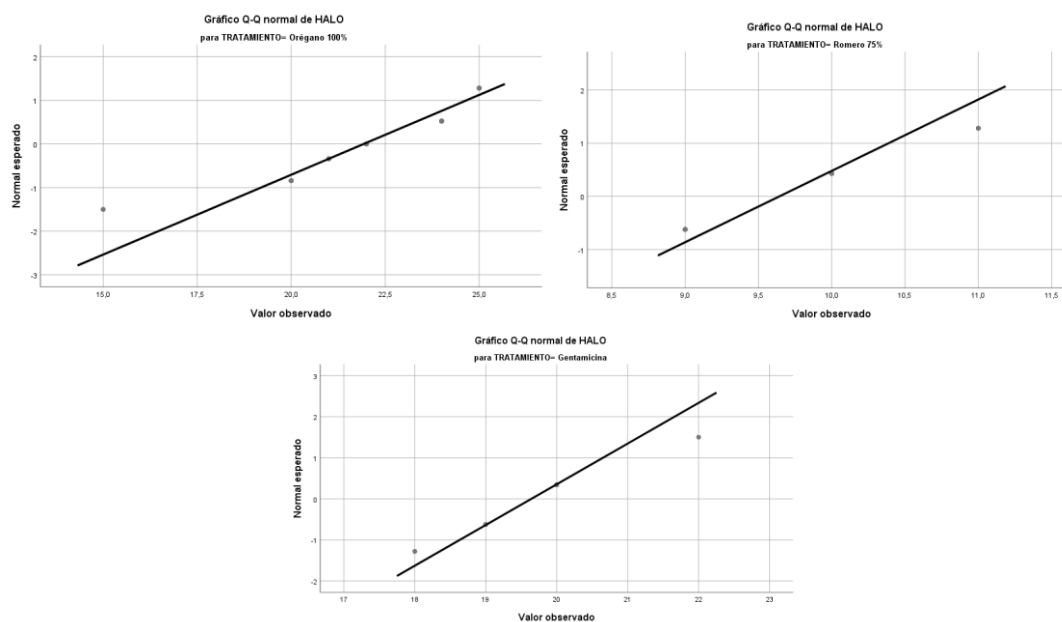
TRATAMIENTO	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
Orégano 100%	0.874	14	0.048
Orégano 75%	0.931	14	0.318
Orégano 50%	0.880	14	0.058
Romero 100%	0.889	14	0.078
Romero 75%	0.773	14	0.002
Romero 50%		14	
Gentamicina	0.831	14	0.012

FUENTE: Ficha de recolección de datos

ELABORACIÓN: Propia

ANEXO N° 5

GRÁFICOS DE NORMALIDAD



ANEXO N° 6

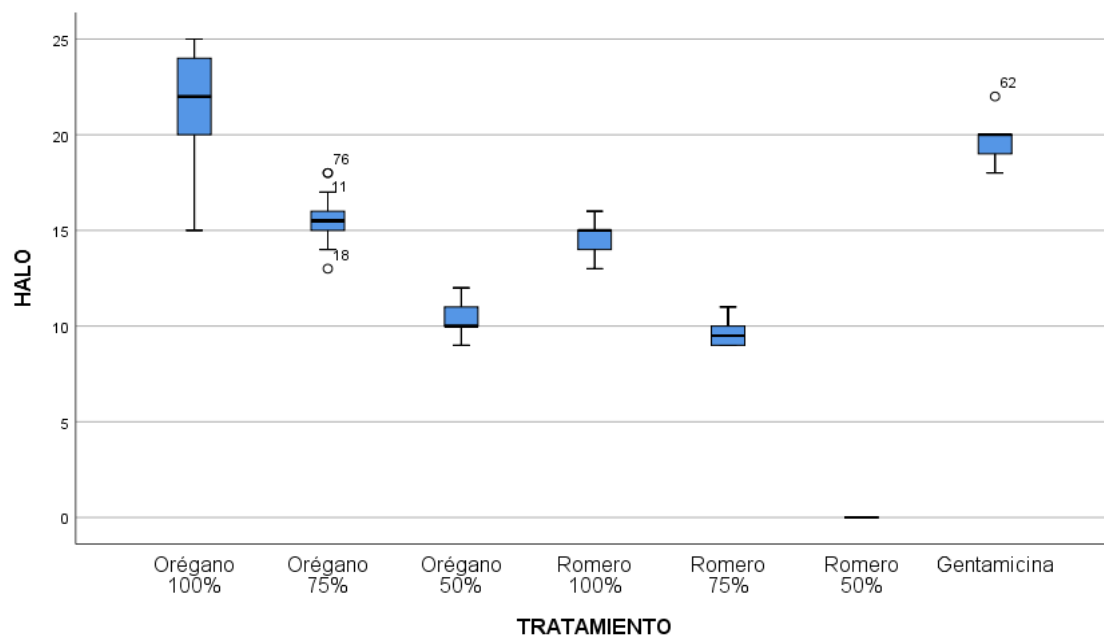
TABLA N° 6: Estadísticas de homogeneidad de varianzas del *Origanum vulgare* y *Rosmarinus officinalis* sobre *Escherichia coli* comparado con gentamicina

	Estadístico			
	de Levene	gl1	gl2	Sig.
Se basa en la media	8.604	6	91	0.000
Se basa en la mediana	7.234	6	91	0.000
Se basa en la mediana y con gl ajustado	7.234	6	39.38	0.000
Se basa en la media recortada	8.696	6	91	0.000

FUENTE: Ficha de recolección de datos

ELABORACIÓN: Propia

ANEXO N° 7



ELABORACIÓN: Propia

ANEXO N° 8

1. Obtención de los aceites esenciales de *Origanum vulgare* y *Rosmarinus officinalis*



2. Obtención de las concentraciones de *Origanum vulgare* y *Rosmarinus officinalis*.



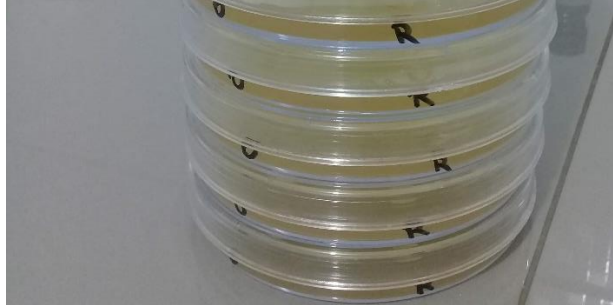
3. Preparación del medio de cultivo de la *Escherichia coli*.



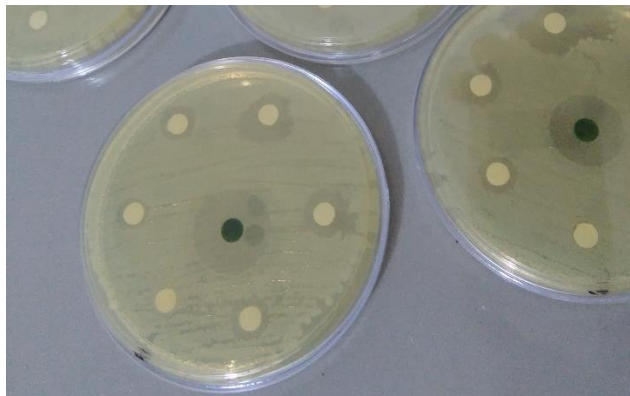
4. Aplicación de cada una de las concentraciones de *Origanum vulgare* y *Rosmarinus officinalis*.



5. Placas obtenidas de las diferentes concentraciones de *Origanum vulgare* y *Rosmarinus officinalis*.



6. Obtención a las 24 horas de los halos de inhibición.



ANEXO N° 9

Planta certificada: *Origanum vulgare*.



ANEXO N° 10

Planta certificada: *Rosmarinus officinalis*.



ANEXO N° 11



UPAO

Museo de Historia Natural y Cultural

HERBARIO ANTENOR ORREGO (HAO)

CONSTANCIA N° 46-2018-HAO-UPAO

El que suscribe, Director del Museo de Historia Natural y Cultural de la Universidad Privada Antenor Orrego, deja:

CONSTANCIA

Que **Leyla Lumiere Alegre Panduro**, estudiante de la carrera profesional de Medicina Humana de la Universidad César Vallejo, ha solicitado la determinación de material vegetal, el cual corresponde a la siguiente especie:

Origanum vulgare L. (Lamiaceae)

El mismo que será utilizado para la tesis titulada: "Efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial del *Origanum vulgare* y *Rosmarinus officinalis* sobre *Escherichia coli* ATCC 11229 comparado con gentamicina".

Se expide la presente constancia a solicitud del interesado para los fines que correspondan.

Trujillo, 25 de octubre de 2018



Mg. Segundo Leiva González

Director

Museo de Historia Natural y Cultural

ANEXO N° 12



UPAO

Museo de Historia Natural y Cultural

HERBARIO ANTENOR ORREGO (HAO)

CONSTANCIA N° 45-2018-HAO-UPAO

El que suscribe, Director del Museo de Historia Natural y Cultural de la Universidad Privada Antenor Orrego, deja:

CONSTANCIA

Que **Leyla Lumiere Alegre Panduro**, estudiante de la carrera profesional de Medicina Humana de la Universidad César Vallejo, ha solicitado la determinación de material vegetal, el cual corresponde a la siguiente especie:

Rosmarinus officinalis L. (Lamiaceae)

El mismo que será utilizado para la tesis titulada: "Efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial del *Origanum vulgare* y *Rosmarinus officinalis* sobre *Escherichia coli* ATCC 11229 comparado con gentamicina".

Se expide la presente constancia a solicitud del interesado para los fines que correspondan.

Trujillo, 25 de octubre de 2018




Leiva

Mg. Segundo Leiva González

Director

Museo de Historia Natural y Cultural

ANEXO N° 13



San Jose


LABORATORIO CLINICO

Calidad y profesionalismo el servicio de tu salud

CONSTANCIA DE EJECUCIÓN DE PROYECTO

El Laboratorio "San José" deja constancia que ha prestado sus instalaciones, en donde la Srta. ALEGRE PANDURO LEYLA LUMIERE estudiante de Medicina de la Universidad César Vallejo de Trujillo, ejecutó la parte experimental de su proyecto de tesis titulado "Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Origanum vulgare* y *Rosmarinus officinale* en comparación con gentamicina sobre cepas de *Escherichia coli*", durante los días 20 al 24 de agosto de 2018, bajo la orientación y asesoramiento del Microbiólogo Jaime Abelardo Polo Gamboa.

Se expide la presente a solicitud de la estudiante, sólo para fines académicos, a los 31 días del mes de agosto de 2018.



José Luis Calla Quevedo
BIÓLOGO - MICROBIÓLOGO
C.B.P. 0301

Sede Principal: Francisco Bolognesi 678 Of. 203 - Centro Histórico - Trujillo
Sucursales: Los Corales 277- Barrio Médico Urb. Santa Inés - Trujillo
☎ 769999 - 📞 948649844
✉ sanjoselabs@hotmail.com 🌐 www.sanjoselabs.amawebs.com/